Journal of Horticultural Science
Vol. 34, No.1, Spring 2020, P. 1-14
ISSN: 2008 - 4730

نشریه علوم باغبانی (علوم و صنایع کشاورزی)
جلد ۳۴، شماره ۱، بهار ۱۳۹۹، ص. ۱۴-۱
شاپا: ۴۷۳۰ - ۲۰۰۸

مقاله علمی-پژوهشی

تأثیر سطوح آبیاری بر بهبود تحمل به تنش یخ‌زدگی در گیاه بنفشه در شرایط کنترل شده

عطیه اورعی[۱]- علی تهرانی فر[۲*]- احمد نظامی[۳]- محمود شور[۴]

تاریخ دریافت: ۱۳۹۶/۰۷/۱۱
تاریخ پذیرش: ۱۳۹۶/۱۲/۲۲

چکیده

به منظور بررسی اثر تنش خشکی بر تحمل به یخ‌زدگی گیاهان بنفشه، آزمایشی به صورت فاکتوریل و در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار در دانشکده کشاورزی دانشگاه فردوسی مشهد در سال ۱۳۹۴ انجام شد. عوامل آزمایش شامل سه سطوح آبیاری (۸۰، ۶۰ و ۴۰ درصد ظرفیت زراعی) و ۱۰ سطح دمایی (۲۰، صفر، ۳-، ۶-، ۹-، ۱۲-، ۱۵-، ۱۸-، ۲۱- و ۲۴- درجه سانتی‌گراد) بود. گیاهان پس از گذراندن دوره خوسرمایی در معرض تیمارهای آبیاری قرار گرفتند و سپس برای تنش یخ‌زدگی به فریزر ترموگرادیان انتقال یافتند. نتایج نشان داد که هر چند با کاهش دما درصد نشت الکترولیت‌ها در گیاهان هر سه تیمار آبیاری افزایش یافت، اما میزان آن در تیمار ۸۰ درصد ظرفیت زراعی نسبت به دو تیمار دیگر به ترتیب ۳۲ و ۱۰ درصد بیشتر بود. گیاهان تحت تیمار (به جز ۸۰ درصد ظرفیت زراعی) توانستند کاهش دما تا ۲۱- درجه سانتی‌گراد را تحمل کنند. تیمارهای۸۰ و ۴۰ درصد ظرفیت زراعی در دمای ۱۸- درجه سانتی‌گراد بیشترین و کمترین (به ترتیب ۷۴ و ۴۲ درصد) کاهش سطح برگ را نسبت به تیمار شاهد داشتند. اجزاء زایشی به طور معنی‌داری تحت تأثیر تیمارهای دمایی و آبیاری قرار گرفتند. گیاهان تحت تیمار ۶۰ درصد ظرفیت زراعی در دمای صفر درجه سانتی‌گراد بیشترین افزایش (به ترتیب ۵۵، ۶۲ و ۶۴ درصد) وزن خشک اجزاء رویشی، زایشی و کل را نسبت به شاهد به خود اختصاص دادند. وجود همبستگی منفی و معنی‌داری بین درصد بقاء و دمای کشنده ۵۰ درصد گیاهان براساس درصد بقاء (LT_{50su}) مشاهده شد ($r = -0/95^{**}$). نتایج همچنین نشان داد که در گیاهان، با کاهش درصد نشت الکترولیت‌ها، دمای کشنده ۵۰ درصد نمونه‌ها بر اساس نشت الکترولیت‌ها (LT_{50el}) و دمای کاهنده ۵۰ درصد وزن خشک گیاه ($RDMT_{50}$) به طور معنی‌داری کاهش یافته است. با توجه به نتایج، به نظر می‌رسد که با اعمال تیمار آبیاری ۶۰ درصد ظرفیت زراعی مقاومت گیاهان بنفشه در برابر تنش یخ‌زدگی افزایش می‌یابد.

واژه‌های کلیدی: بقاء زمستانه، تغییرات اقلیمی، دمای کشندگی، مقاوم‌سازی، یخزدگی

مقدمه

بنفشه (*Viola× wittrockiana*) گیاهی چند ساله است که به صورت یکساله کشت می‌شود و متعلق به خانواده Violaceae می‌باشد. این گیاه به صورت علفی رشد می‌کند (۱۴). بنفشه بهترین رشد را در دمای ۴-۱۳ درجه سانتی‌گراد داشته از این رو دماهای یخ‌زدگی زمستانه نقش مهمی در ماندگاری آن دارند (۶). در اغلب نواحی معتدله عواملی مانند یخ‌زدگی، چرخه‌های ذوب و یخ (که به دلیل کاهش و افزایش دمای محیط ایجاد می‌شود)، تشکیل لایه‌های یخ روی گیاه و خاک (که موجب بروز شرایط غیرهوازی در گیاه می‌شود)، همچنین پسابیدگی زمستانه (که در این حالت خاک منجمد است، در حالی که دمای هوا افزایش می‌یابد و گیاه در معرض تشعشع خورشید و افزایش تعرق قرار دارد) رشد و نمو و بقاء زمستانه گیاهان را تحت تاثیر قرار می‌دهند (۳۵).

توانایی گیاهان مختلف در تحمل به دمای پایین بسیار متفاوت است با این وجود برای تضمین بقاء گیاهان در شرایط زمستان وجود مکانیسم‌های سازگار کننده ضروری است و از جمله مهم‌ترین مکانیسم‌های شناخته شده در این خصوص می‌توان به خوسرمایی اشاره داشت (۱۸). ایجاد خوسرمائی در گیاه از طریق تغییر در ترکیب چربی‌های غشاء پلاسمائی، تجمع ترکیبات محافظت کننده نظیر کربوهیدارت‌ها، اسیدهای آمینه یا سایر اسمولیت‌ها و القاء فعالیت ژن های جدید سبب افزایش مقاومت گیاه به سرمای زمستانه می‌شود (۱۱). تغییر آبیاری و تنش خشکی یکی دیگر از مکانیسم‌هایی که جهت افزایش تحمل به یخ‌زدگی استفاده می‌گردد. اعتقاد بر این است که تنش سبب بهبود مقاومت گیاهان به تنش‌های دمایی می شود

۱، ۲ و ۴- به‌ترتیب دانش آموخته دکتری، استاد و دانشیار گروه علوم باغبانی و فضای سبز، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد
(*- نویسنده مسئول: Email:tehranifar@um.ac.ir)
۳- استاد گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد
DOI: 10.22067/jhorts4.v34i1.64594

(۵). جیانگ و هانگ (۱۳) در تحقیقی نشان دادند که تنش خشکی سبب افزایش مقاومت به دمای زیاد به دلیل افزایش رشد ریشه و تنظیمات اسمزی در چمن پوآ (*Kentucky bluegrass*) گردید. نتایج آزمایش هافمن و همکاران (۱۱) بر اثر پیش تیمار تنش خشکی بر مقاومت به یخزدگی در دوشرایط دریافت تیمار خوسرمایی (۲ درجه سانتی‌گراد) و عدم دریافت خوسرمایی (۲۰ درجه سانتی‌گراد) در دو رقم چمن لولیوم (*Lolium perenne*) نشان داد که پیش تیمار تنش خشکی سبب افزایش مقاومت به یخزدگی (کمترین LT_{50}) در رقم بوکانیر (Buccaneer) گردید اما بر رقم سانکیسد (Sunkissed) تأثیری نداشت. مدیرز و پوکمن (۱۹) اثر تیمارهای خشکی را بر گیاه بوته قطران (*Larrea tridentate*) بررسی نمودند و نتایج نشان داد که تنش خشکی سبب افزایش مقاومت به یخزدگی در برگ‌ها گردید و همچنین بعد از تنش یخزدگی، مرگ سلولی در گیاهانی که در معرض تنش خشکی بودند کمتر از گیاهانی که آبیاری کامل دریافت کردند، بود. در هر دو تیمار آبیاری گیاهان در دمای ۲۴- درجه سانتی‌گراد از بین رفتند. در گیاه توت‌فرنگی نتایج مورد بررسی نشان داد که تنش آبی و دمای کم دو کلید اساسی در سازگاری به یخزدگی به شمار می‌آیند، زیرا در طبیعت با کاهش دما در گیاهان تنش خشکی اعمال می‌گردد و پتانسیل آب برگ کاهش می‌یابد. درحالی که هر دو فاکتور دما و آبیاری در سازگاری به دمای کم نقش دارند، اما به نظر می‌رسد در این گیاه تنش آبی نقش مهم‌تری را در مقاومت به یخزدگی ایفا می‌کند. تیمار خوسرمایی گیاهان به مدت دو هفته سبب افزایش مقاومت به یخزدگی از ۱۴ درجه تا ۲۰- درجه سانتی‌گراد گردید در حالی با حذف تیمارتنش خشکی گیاهان فقط تا ۵ درجه سانتی‌گراد مقاوم بودند که این نشان دهنده نقش مهم تنش خشکی در سازگاری به دمای کم می‌باشد (۳۲).

در تنش سرما فعالیت غشاء مختل می‌گردد، به همین دلیل اندازه‌گیری نشت الکترولیت‌ها از بافت‌های گیاهی پس از اعمال تنش یخزدگی ، به عنوان یک روش مناسب برای تخمین میزان خسارت سرما در گیاهان مورد استفاده قرار گرفته است و دمایی که سبب ۵۰ درصد نشت از سلول‌های گیاهی می‌شود به عنوان دمای ۵۰ درصد کشندگی (LT_{50el})[1] پیشنهاد شده است (۲۹). در مطالعه ای تحمل به یخزدگی گونه‌های زویشیاگراس (*Zoysia* spp.) مورد آزمایش قرار گرفت و مشاهده شد که دامنه دمای پنجاه درصد کشندگی بر اساس درصد نشت الکترولیت‌ها در آن‌ها بین ۱/۹- تا ۱۰/۴- درجه سانتی‌گراد با میانگین LT_{50} (۱/۷۷±۶/۴- درجه سانتی‌گراد) بود و بیشترین و کمترین مقدار آن به ترتیب در گونه‌های *Z. macrostachia* (حساس) و *Z. japonica* (متحمل) مشاهده شد

(۳۷). از آنجایی که تنش یخزدگی منجر به کاهش درصد بقاء (۳۳) می‌شود، لذا تعیین دمایی که منجر به کاهش ۵۰ درصدی در بقاء گیاهان می‌گردد، شاخص مناسب دیگری برای بهگزینی (LT_{50su})[2] انواع متحمل ذکر شده است (۳۸). موسوی و همکاران (۲۲) تحمل به یخزدگی گیاه زینتی مینای چمنی (*Bellis perenis*) را بر اساس شاخص درصد بقا و LT_{50su} مورد بررسی قرار داده و مشاهده کردند که با کاهش دما به کمتر از ۱۶- درجه سانتی‌گراد درصد بقاء گیاهان کاهش یافت و میزان LT_{50su} گیاه نیز ۱۷- درجه سانتی‌گراد بود.

اعتقاد بر این است که درصد بقاء و LT_{50su} به تنهایی نمی‌تواند معیار معتبر و مناسبی برای تشخیص و معرفی ارقام متحمل باشد. بعبارتی ممکن است یک نمونه گیاهی LT_{50su} خوبی (به لحاظ این شاخص متحمل‌تر باشد) داشته باشد، ولی لزوماً زیست توده مناسبی تولید نکند، از این رو تعیین دمایی که سبب کاهش ۵۰ درصد وزن خشک گیاه ($RDMT_{50}$)[3] می‌شود، مد نظر قرار گرفته است (۲۹). در بررسی بر تحمل به سرمای دیررس بهاره گیاه دارویی سیاه‌دانه (*Nigella sativa* L.) از نظر $RDMT_{50}$ تفاوت معنی‌داری بین اکوتیپ ها وجود داشت، بطوری که اکوتیپ های سبزوار و بیرجند کمترین و اکوتیپ فردوس بیشترین مقدار را به لحاظ این شاخص داشتند. در مطالعه مذکور، اکوتیپ های سبزوار و فردوس به لحاظ LT_{50su} نیز به ترتیب بعنوان مقاوم‌ترین و حساس‌ترین اکوتیپ ها شناخته شدند (۱۵).

بنفشه گیاهی با اهمیت اقتصادی فراوان است که بیشتر به عنوان یک محصول فصل سرد کاربرد دارد و یکی از عوامل محدود کننده رشد این گیاه، افزایش دما طی فصول سرد و به دنبال آن ایجاد تنش خشکی است. از طرف دیگر در گذشته در زمستان به علت کاهش تبخیر و تعرق و وجود رطوبت نسبی مناسب گیاهان نیاز به آبیاری کمتری داشتند اما پراکنش متفاوت و تغییر مدت این دوره ها در زمستان تغییر کرده است و سرما به دوره های کوتاه مدتی تبدیل گردیده اند. از آنجایی که متغیرهای دما و بارش عوامل موثری در مطالعه تغییر اقلیم به شمار می‌روند مطالعات انجام گرفته نیز بیشتر بر محور این دو متغیر متمرکز بود و این سئوال را برای متصدیان فضای سبز به وجود آورده که آیا باید این گیاهان را در زمستان آبیاری نمود ؟. بنابراین در این پژوهش اثرات متقابل تنش خشکی و یخزدگی در بر برخی صفات فیزیولوژیکی و مورفولوژیکی گیاه بنفشه تحت شرایط کنترل شده ارزیابی گردید.

مواد و روش‌ها

1 -Lethal temperature 50 according to electrolyte leakage percentage

2- Lethal temperature 50 according to the plant survival percentage

3- Reduced dry matter temperature 50

این آزمایش در سال ۱۳۹۴ به صورت فاکتوریل و در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار در دانشکده کشاورزی دانشگاه فردوسی مشهد اجرا شد. عوامل آزمایش شامل سه تیمار آبیاری (۸۰٪، ۶۰ و ۴۰ درصد ظرفیت زراعی) و ده سطح دمایی (۲۰، صفر، ۳-، ۶-، ۹-، ۱۲-، ۱۵-، ۱۸-، ۲۱-، ۲۴- درجه سانتی‌گراد) بود. این آزمایش شامل ۹۰ گلدان، و هر گلدان حاوی ۵ گیاه بود. پس از کشت بذور بنفشه (*Viola* × *wittrockiana* Iona Gold with Blotch) در مرداد ماه در خزانه، گیاهان پنج برگی در آبان ماه به گلدان‌هایی با طول ۱۷ و قطر ۱۶ سانتی‌متر حاوی خاک مزرعه، ماسه و کود حیوانی، منتقل شدند. گیاهان در شرایط آب‌وهوای طبیعی رشد یافته و با سرما خو گرفتند (دمای حداقل و حداکثر تابستان، پاییز و زمستان سال آزمایش در شکل ۱ نشان داده شده است). با ظهور گل‌ها تیمار تنش خشکی به مدت دو هفته با استفاده از روش وزنی اعمال گردید. میزان رطوبت وزنی برای وضعیت زراعی (FC[1]) بر اساس معادله (۱) محاسبه شد (۴).

$$FC = \frac{A - B}{B} \times 100$$ (۱)

در این معادله A: وزن خاک مرطوب پس از خروج آب ثقلی و B: وزن خاک خشک شده در دمای ۱۰۵ درجه به مدت ۴۸ ساعت می باشد.

سپس برای اعمال تیمارهای یخ‌زدگی به فریزر ترموگرادیان منتقل شدند. دمای فریزر در شروع آزمایش پنج درجه سانتی‌گراد بود که پس از قرار دادن نمونه‌ها در آن دما با سرعت دو درجه سانتی‌گراد در ساعت کاهش یافت. جهت جلوگیری از پدیده فراسرما و ایجاد هستک یخ در گیاهان و اطمینان از اینکه مکانیزم از نوع تحمل است و نه اجتناب، در دمای ۲- درجه سانتی‌گراد اسپری INAB (Ice nucleation active bacteria) بر روی نمونه‌های مربوط به تیمارهای دمایی کمتر از صفر درجه سانتی‌گراد به نحوی انجام شد که سطح گیاه را قشری نازک از این محلول پوشاند. جهت ایجاد تعادل در دمای محیط و اطمینان از قرار گرفتن گیاهان در معرض دماهای مورد نظر، گیاهچه‌ها در هر تیمار دمایی به مدت یک ساعت نگهداری (۲۸) و سپس از فریزر خارج و به منظور جلوگیری از ذوب شدن سریع به اتاقک سرد با دمای ۲± ۵ منتقل و بمدت ۱۲ تا ۲۴ ساعت نگهداری شدند. به منظور تعیین پایداری غشاء پلاسمایی از روش اندازه گیری نشت یونی استفاده شد. به این منظور برای هر تیمار دمایی پنج برگ جوان کاملا توسعه یافته از پنج گیاه انتخاب و در ویال‌های حاوی ۴۰ میلی لیتر آب دوبار تقطیر در شرایط محیطی آزمایشگاه قرار داده شدند. سپس نمونه‌ها روی شیکر قرار گرفته و بعد از شش ساعت نشت الکترولیت‌ها با استفاده از دستگاه EC متر (مدل- Jenway) اندازه گیری شد (EC_1). به منظور اندازه‌گیری میزان کل نشت الکترولیت‌ها در اثر مرگ سلول، ویال‌ها به مدت ۲۰ دقیقه در اتوکلاو، با فشار ۱/۵ مگاپاسکال و دمای ۱۲۱ درجه سانتی‌گراد، قرار داده شدند. سپس نمونه‌ها به مدت شش ساعت روی شیکر قرار گرفته و پس از آن نشت الکترولیت‌ها (EC_2) اندازه‌گیری شد. درصد نشت الکترولیت‌ها با استفاده از معادله (۲) محاسبه شد (۳۱).

$$EL\% = \frac{E1}{E2} \times 100$$ (۲)

در این معادله EL%، EC_1 و EC_2 به‌ترتیب نشان دهنده‌ی درصد نشت الکترولیت‌ها، نشت الکترولیت اولیه و نشت الکترولیت نهایی می باشند.

جهت تعیین درصد بقاء و بازیافت، گلدان‌های حاوی نمونه‌های گیاهی به گلخانه منتقل شده و پس از حدود ۴ هفته رشد مجدد آن‌ها ارزیابی شد (۹). درصد بقاء گیاهان از طریق شمارش تعداد بوته زنده در هر گلدان و از طریق معادله (۳) محاسبه شد.

$$SU\% = \frac{A}{B} \times 100$$ (۳)

در این معادله A و B به‌ترتیب گیاهان قبل از تیمار دمایی و تعداد گیاهان زنده بعد از دوره ریکاوری می‌باشد.

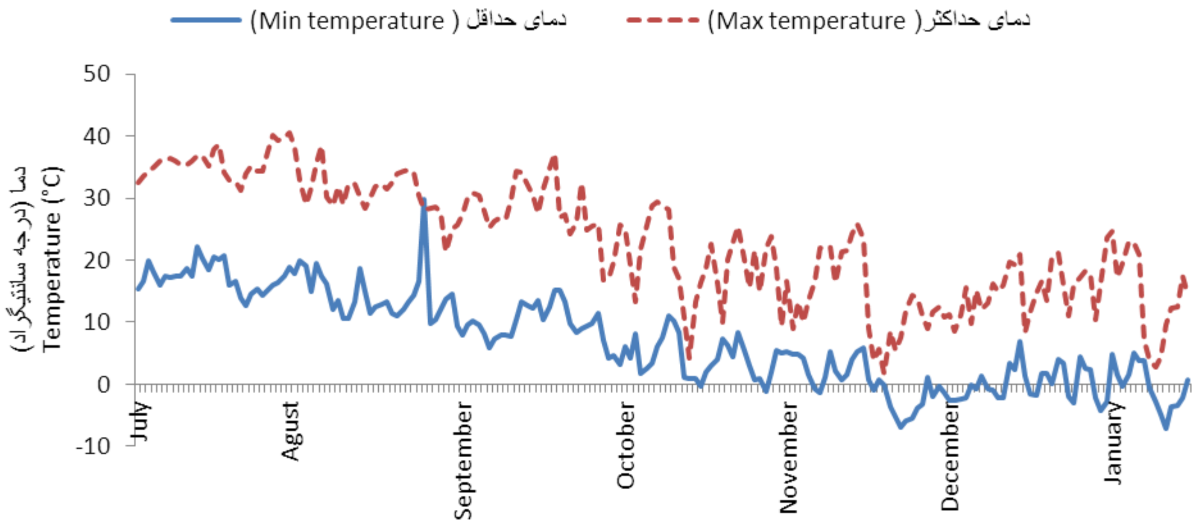
همزمان صفات دیگری نظیر سطح برگ و اندام‌های زایشی (گل و غنچه) ثبت شد. وزن خشک اندام رویشی (ساقه و برگ)، اندام زایشی (تعداد گل، غنچه و کپسول)، ریشه و وزن خشک کل گیاهان نیز پس از ۴۸ ساعت قرار گرفتن در آون با دمای ۷۰ درجه سانتی‌گراد تعیین شد.

به منظور محاسبه دمای ۵۰ درصد کشندگی بر اساس درصد نشت الکترولیت‌ها، از روش اندرسون و همکاران (۱) از معادله (۴) استفاده شد.

$$ELp = ELi + \left\{\frac{ELm - ELi}{(1+e^{-B(T-Tm)})}\right\}$$ (۴)

که در این معادله ELp: میزان نشت الکترولیت پیش بینی شده، Eli: حداقل مقدار نشت الکترولیت در دماهای مختلف، Elm: حداکثر نشت الکترولیت در دماهای مختلف، e: عدد نپر، B: سرعت افزایش شیب منحنی، T: دما و Tm: نقطه عطف منحنی (نقطه میانی بین نقاط حداقل و حداکثر منحنی و نشان‌دهنده خروج ۵۰ درصد الکترولیت‌ها از سلول) می‌باشد. LT_{50su} و $RDMT_{50}$ نیز به ترتیب با استفاده از رسم نمودار درصد بقاء و وزن خشک گیاهان در مقابل دماهای یخ‌زدگی و تعیین دمایی که سبب کاهش ۵۰ درصدی صفت مورد بررسی نسبت به تیمار شاهد شده بود، تعیین گردیدند. محاسبات آماری و رسم نمودارها با استفاده از نرم افزارهای SAS JMP 13.2، Excel و Slidewrite انجام شد و میانگین‌ها با آزمون LSD مقایسه شدند.

1- Field capacity



شکل ۱- تغییرات دمای حداقل و حداکثر روزانه درتابستان، پاییز و زمستان سال ۱۳۹٤

Figure 1- Variation of daily minimum and maximum temperature during summer, autumn and winter, 2015

نتایج و بحث

اثر متقابل تنش خشکی و دما بر درصد نشت الکترولیت‌ها معنی‌دار بود (جدول ۱)، به‌طوری که تیمار ۸۰ درصد ظرفیت زراعی در دمای ۲۰ درجه سانتی‌گراد حداقل و در دمای ۲۴- درجه سانتی‌گراد حداکثر میزان نشت الکترولیت‌ها را داشت. هر چند با کاهش دما درصد نشت الکترولیت‌ها در گیاهان هر سه تیمار آبیاری افزایش یافت، اما این افزایش در تیمار ۸۰٪ ظرفیت زراعی نسبت به دو تیمار دیگر در دمای ۲۴- درجه سانتی‌گراد به ترتیب ۱۶ و ۲/۸ درصد بیشتر بود. شیب افزایش نشت الکترولیت‌ها در تیمارهای ۶۰ درصد و ۴۰ درصد کمتر از تیمار ۸۰ درصد بود. رسیدن به حداکثر درصد نشت الکترولیت‌ها نیز در همه تیمارها در دمای ۲۴- درجه سانتی‌گراد رخ داد (شکل ۲). در بررسی اثر تنش یخزدگی بر گیاه گوارا (*Guara coccinea.*) نیز مشخص گردید که با کاهش دمای یخزدگی درصد نشت الکترولیت‌ها افزایش می‌یابد، درصد نشت الکترولیت‌ها در دمای ۱۵- درجه سانتیگراد ۵۴ درصد بیش تر از دمای صفر درجه سانتی‌گراد بوده است (۳۱). ژوان و همکاران (۳۷) دمایی را که در آن ۵۰ درصد نشت الکترولیت‌ها اتفاق می افتد، به عنوان دمای ۵۰ درصد کشندگی بر اساس نشت الکترولیت‌ها (LT_{50el}) مورد استفاده قرار دادند. در مطالعه حاضر، از نظر شاخص ذکر شده نیز بین تیمارهای آبیاری اختلاف معنی‌داری وجود داشت. تیمار ۶۰ درصد ظرفیت زراعی دارای کمترین LT_{50el} بود اما مقدار آن در دو تیمار ۸۰ درصد و ۴۰ درصد ظرفیت زراعی به ترتیب ۳/۳ و ۶/۶ درجه سانتی‌گراد نسبت به تیمار ۶۰ درصد ظرفیت زراعی افزایش یافت (جدول۴). از آنجایی که تنش سرما سبب اختلال در غشای سلولی و بدنبال آن نشت الکترولیت‌ها از سلول می‌شود لذا اندازه‌گیری نشت معیار قابل قبولی برای مقاومت به تنش یخزدگی می‌باشد (۲۱). در بررسی حاضر با کاهش دما از ۲۰ به ۲۴- درجه سانتی‌گراد میزان نشت الکترولیت‌ها به دلیل آسیب غشاء افزایش یافت. نتایج آزمایش حاضر با نتایج نظامی و همکاران (۲۴) که نشان دادند که در گیاهان تحت تنش، شیب نشت منحنی درصد نشت الکترولیت‌ها در مقابل دماهای یخزدگی افزایش می‌یابد، مطابقت دارد. در برگ‌های زنده آسیب‌های مکانیکی به دلیل تشکیل هسته‌های یخ درون سلول سبب مرگ سلول یا آسیب بر میزان فتوسنتز برگ می‌شود (۳۰)، از طرفی سلول‌های گیاهی در طول تنش یخزدگی به خشکی آدابته می‌گردند بنابر این سلول‌ها به تغییرات بیشتر در اثر تشکیل هسته‌های یخ در تنش یخزدگی مقاوم‌تر می‌گردند زیرا خشکی با تنظیمات اسمزی سبب تغییرات خواص غشاء می‌شود (۳۴). نتایج نشان داد که تیمار آبیاری ۶۰ درصد ظرفیت زراعی سبب کاهش میزان نشت الکترولیت‌ها گردید و از طرفی با کاهش LT_{50el} مقاومت به تنش یخزدگی افزوده گردید که این نتایج با نتایج هافمن و همکاران (۱۱)که نشان دادند در اثر اعمال تنش خشکی گیاهانی با LT_{50} کمتر در برابر تنش یخزدگی مقاوم‌تر بودند، تطابق داشت

جدول ۱- تجزیه واریانس (میانگین مربعات) درصد نشت الکترولیت، درصد بقاء و رشد مجدد گیاهان بنفشه تحت تیمارهای آبیاری و دمایی
Table 1- ANOVA (mean of squares) of the electrolyte leakage (%), survival (%) and traits related to regrowth of viola plants under irrigation and temperature treatments

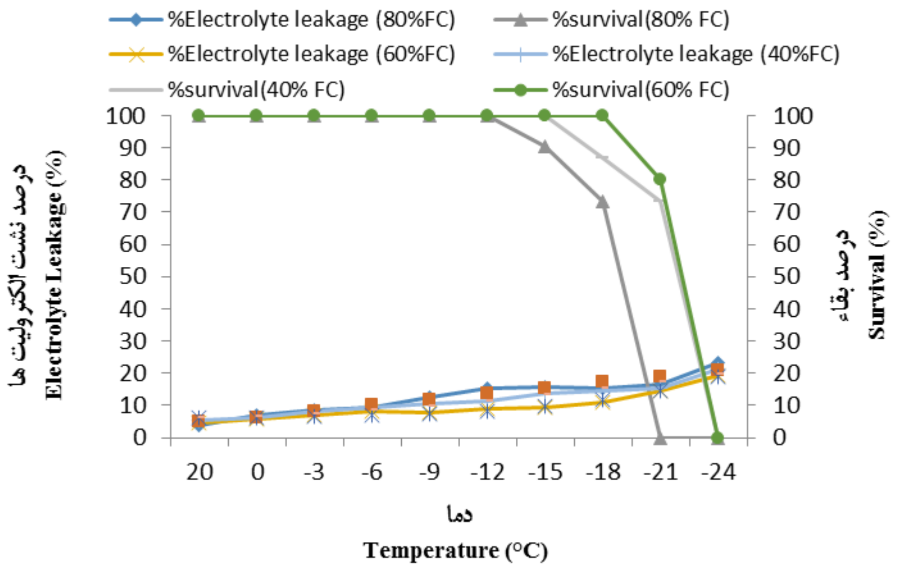
منابع تغییرات S.O.V	درجه آزادی Df	نشت الکترولیت Electrolyte leakage (%)	بقاء Survival (%)	سطح برگ Leaf area	تعداد گل Number of flower	تعداد غنچه Number of bud	وزن خشک Dry weight			
							رشد رویشی Vegetative growth	رشد زایشی Reproductive growth	ریشه Root	کل Total
آبیاری Irrigation	2	71.1**	1098**	1661**	10.4**	8.74**	4924934**	4763174**	104970**	20028459**
دما Temperature	9	214**	9868**	7325**	48.4**	40.8**	11437871**	6482471**	44746**	43004588**
آبیاری× دما Irrigation×Temperature	18	4.8**	599**	67.4**	2.7**	2.30**	217467**	287026**	8994**	819495**
خطا Error	60	0.2	31.1	5.1	0.8	0.8	82001	38304	946	115612
ضریب تغییرات CV (%)		3.99	6.68	4.66	18.8	9.64	11.3	11.7	8.31	7.18

**: نشان دهنده معنی‌داری در سطح احتمال ۱ درصد می‌باشد.
**: Represents a significant at 1% probability level

اثرات متقابل تیمارهای آبیاری و دمایی بر درصد بقاء گیاهان معنی‌داری بود (جدول ۱). گیاهان در سه تیمار آبیاری تا دمای ۱۲- درجه سانتی‌گراد کاملا زنده ماندند اما در تیمار ۸۰ درصد ظرفیت زراعی کاهش دما به ۲۱- درجه سانتی‌گراد سبب مرگ تمام گیاهان شد اما بقاء دو تیمار دیگر در این دما به ترتیب ۸۰ و ۷۳ درصد بود. در تیمار ۶۰ درصد ظرفیت زراعی گیاهان تا ۱۸- درجه سانتی‌گراد کاملا زنده ماندند اما بقاء در دو تیمار دیگر به ترتیب ۲۷ و ۱۳ درصد کاهش یافت (شکل ۲). کیم و اندرسون (۱۶) در بررسی اثر تنش یخزدگی بر گیاه زینتی داوودی (*Dendranthema grandiflora* Tzvelv.) مشاهده کردند که دماهای یخزدگی تاثیر معنی‌داری بر درصد بقاء گیاهان داشت و با کاهش دما درصد بقاء نیز کم شد، بطوریکه در دماهای ۱۰- و ۱۲- درجه سانتی‌گراد درصد بقاء به ترتیب ۴۶ و ۵۳ درصد کمتر از دمای ۶- درجه سانتی‌گراد بود. ایشان بیان کردند که درصد بقاء بسته به ژنوتیپ گیاهان متفاوت بود. هر چه تحمل به تنش یخزدگی کمتر باشد کاهش دما آسیب بیشتری به گیاهان وارد می‌کند و در نتیجه درصد بقاء نیز کمتر خواهد شد. به طور کلی روش مناسب برای ارزیابی مقاومت گیاهان به سرما، قرار دادن گیاهان در دماهای یخزدگی و تعیین بقاء آن‌ها در برابر دماهای یخزدگی بعد از سه هفته دوره رشد مجدد می‌باشد (۹). نتایج نشان داد که با کاهش بیشتر دما از درصد بقاء گیاهان کاسته شد. از طرفی بین درصد نشت الکترولیت‌ها و درصد بقاء گیاهان رابطه معکوسی وجود دارد بنحویکه با افزایش میزان درصد نشت از بافت‌های گیاهان تحت تیمار ۸۰ درصد ظرفیت زراعی از میزان بقاء گیاهان در برابر دماهای یخزدگی کاسته شد. به نظر می‌رسد که حضور آب در خاک سبب تشکیل هسته‌های یخ بعد از تیمارهای دمایی شده است و با افزایش درصد نشت الکترولیت‌ها، درصد بقاء گیاهان را کاهش داده است. از طرفی بین تنش‌های محیطی ارتباط تنگاتنگی وجود دارد بنحویکه گیاهان در مقابله با تنش‌ها برای بقاء خود، ترکیبات ثانویه‌ای را تولید می‌نمایند و به نظر می‌رسد گیاهان تحت تنش خشکی ۶۰ و ۴۰ درصد ظرفیت زراعی با تولید این ترکیبات ثانویه (پرولین) و تنظیمات اسمزی اثرات منفی تنش یخزدگی را تخفیف داده‌اند زیرا تنظیمات اسمزی در طی تنش خشکی باعث کاهش دمای یخزدگی شیره سلولی می‌گردد (۱۷) و از طرفی سوپرکولینگ سلول‌ها تا دمای ۱۰- درجه سانتی‌گراد ادامه می‌یابد درحالی که یخزدگی آپوپلاست در دماهای نزدیک به صفر درجه سانتی‌گراد حاصل می‌شود (۱۹).

اثرات متقابل تیمار آبیاری و دمایی بر دمای ۵۰ درصد کشندگی براساس درصد بقاء معنی‌دار بود. گیاهان تحت تیمارهای ۶۰ و ۴۰ درصد ظرفیت زراعی دارای کمترین LT_{50su} بودند. با کاهش تنش خشکی در تیمار ۸۰ درصد ظرفیت زراعی نسبت به دو تیمار دیگر LT_{50su} به ترتیب ۳، ۲/۹ درجه سانتی‌گراد افزایش یافت (جدول ۴). بین درصد نشت الکترولیت‌ها و درصد بقاء گیاهان بنفشه همبستگی منفی و معنی‌داری ($r = -۰/۷۷^{**}$) مشاهده شد (جدول ۵) و لذا با افزایش درصد نشت الکترولیت‌ها، مرگ و میر گیاهان افزایش یافته است. موسوی و همکاران (۲۲) نیز در بررسی تحمل به یخزدگی گیاه زینتی مینا چمنی بیان کردند بین درصد نشت الکترولیت‌ها و درصد بقاء رابطه منفی وجود داشت. با وجود این در شرایطی که ۵۰ درصد نشت الکترولیت‌ها به وقوع پیوسته است، هیچ گونه مرگ و میری در سه تیمار آبیاری رخ نداده، بلکه نشت الکترولیت‌ها به میزان ۴۲، ۴۸ و ۴۶ درصد به ترتیب در گیاهان تحت تیمار ۸۰، ۶۰ و ۴۰ درصد منجر به کاهش ۵۰ درصدی بقاءگیاهان شده است (شکل ۲). گیاهان بنفشه

با LT_{50su} منفی‌تر تحمل بیشتری به دماهای یخ‌زدگی نسبت به گیاهان با LT_{50su} بالاتر دارند در آزمایش حاضر، سطوح آبیاری ۶۰ و ۴۰ درصد ظرفیت زراعی با دارا بودن حداکثر درصد بقاء در دمای ۵۰ درصد کشندگی می‌توانند به عنوان تیمارهایی برای افزایش مقاومت به یخ‌زدگی انتخاب شوند، که نتایج این آزمایش مطابق با نظرات کیم و اندرسون (۱۶) می‌باشد. وجود همبستگی بسیار قوی و منفی بین LT_{50su} و درصد بقاء نشان دهنده‌ی این است که گیاهانی با LT_{50su} منفی‌تر از بالاترین درصد بقاء پس از دوره رشد مجدد برخوردارند (جدول ۵). در آزمایش حاضر، گیاهانی که تحت تیمار آبیاری ۸۰ درصد ظرفیت زراعی قرار داشتند با بالاتر بودن میزان LT_{50su} سبب کاهش درصد بقاء و کاهش مقاومت به سرما گردید.



شکل ۱- اثر متقابل آبیاری × دما بر درصد نشت الکترولیت‌ها (منحنی برازش داده شده) پس از اعمال تیمار آبیاری و دمایی و درصد بقاء گیاه بنفشه پس از یک ماه بازیافت در شرایط گلخانه

مقدار LSD در سطح احتمال ۱ درصد برای درصد نشت الکترولیت‌ها و درصد بقاء به ترتیب ۱/۰۶ و ۱۳/۱ است.

Figure 1- Effect of irrigation × temperature on electrolyte leakage percentage (fitted curve) after applying temperature treatment and survival percentage viola plant after one month recovery in greenhouse conditions

LSD value for electrolyte leakage percentage and survival percentage is 1.06 and 13.1, respectively.

سطح برگ گیاهان به طور معنی‌داری تحت اثرات متقابل تیمار آبیاری و دمایی قرار گرفت (جدول ۱). هرچند کاهش دما از شاهد به صفر درجه سانتی‌گراد منجر به افزایش سطح برگ در تمامی تیمارهای آبیاری شد، اما بیشترین افزایش در تیمار ۶۰ درصد ظرفیت زراعی (۶۷ درصد) و کمترین آن در تیمار ۸۰ درصد ظرفیت زراعی (۴۳ درصد) مشاهده شد. تیمارهای ۴۰ و۶۰ درصد در دمای ۲۱- درجه سانتی‌گراد نسبت به دمای شاهد به ترتیب بیشترین و کمترین کاهش سطح برگ (۷۸ و ۴۹ درصد) را داشتند، درحالیکه گیاهان تحت تیمار ۸۰ درصد ظرفیت زراعی در شرایط مشابه از بین رفتند (جدول ۲). متوالی و همکاران (۲۰) نشان دادند در گیاهان همیشه بهار تیمار ۷۵ درصد ظرفیت زراعی نسبت به سایر تیمارهای تنش خشکی موجب افزایش سطح برگ گیاهان شد، از طرفی در مطالعه‌ای بر روی ارقام گندم (*Triticum aestivum*) که در معرض شش تیمار یخ‌زدگی (صفر، ۴-، ۸-، ۱۲-، ۱۶- و ۲۰- درجه سانتی‌گراد) قرار گرفتند، در دمای ۱۶- درجه سانتی‌گراد بیشترین کاهش سطح برگ مربوط به رقم MV-17 و به میزان ۹۸ درصد نسبت به دمای صفر بود (۸). در بررسی تاپا و همکاران (۳۶) بر روی یونجه یکساله (*M.truncatula*) و ارکولی و همکاران (۷) در بررسی سورگوم (*Sorghum bicolor*) نیز مشاهده شد که کاهش دما سبب کاهش سطح برگ گیاهان شده است. در تمام تیمارهای آبیاری با کاهش بسیار دما به زیر ۹- درجه سانتی‌گراد سطح برگ گیاهان نیز کاهش یافت، اما این کاهش بسته به نوع تیمار آبیاری متفاوت بود. دو تنش خشکی و یخ‌زدگی در بسیاری از گیاهان به طور مجزا مورد بررسی قرار گرفته است اما اثرات متقابل این دو پاسخ‌های متفاوتی را در گیاه بنفشه در برداشت. کاهش سطح برگ در گیاهان تحت آبیاری کامل (۸۰ درصد ظرفیت زراعی) به دلیل از بین رفتن تعداد برگ‌ها در اثر

تیمارهای یخزدگی بود. بین سطح برگ و میزان نشت الکترولیت‌ها همبستگی منفی و معنی‌داری (r =-۰/۸۸**) مشاهده شده است بنحوی‌که که با افزایش درصد نشت الکترولیت‌ها از سطح برگ در پایان دوره رشد مجدد گیاهان بعد از چهار هفته کاسته شد در گیاهان تحت تیمار ۸۰ درصد ظرفیت زراعی میزان نشت الکترولیت‌ها بعد از تیمارهای آبیاری تحت دماهای مختلف یخزدگی بیشتر بود که به نظر می‌رسد که سبب کاهش رشد سطح برگ گردیده است زیرا گیاهانی که نشت الکترولیت از اندام‌های آن‌ها افزایش می‌یابد از توانایی بازیابی این بافت‌ها کاسته می‌شود.

تعداد اجزای زایشی (گل و غنچه) به طور معنی‌داری تحت تأثیر اثرات متقابل آبیاری و دمایی در پایان دوره ریکاوری قرار گرفتند (جدول ۱). بین گیاهان از لحاظ تعداد گل در سه تیمار آبیاری تحت تیمار دمایی ۱۸- درجه سانتی‌گراد تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد، اما با کاهش دما از صفر تا ۳- درجه سانتی‌گراد در تیمار ۶۰ درصد ظرفیت زراعی ۶۵ درصد بر تعداد گل افزوده شد. بین گیاهان تحت تیمارهای آبیاری بیشترین تعداد غنچه در دمای صفر درجه سانتی‌گراد مشاهده شد هر چند با کاهش دما از تعداد غنچه نسبت به دمای صفر درجه سانتی‌گراد کاسته شد اما در گیاهان تحت تیمار آبیاری ۸۰ درصد ظرفیت زراعی از بازه دمایی ۶- تا ۱۵- و در دو تیمار آبیاری دیگر در بازه دمایی ۱۲- تا ۲۱- درجه سانتی‌گراد تفاوت معنی‌داری با شاهد مشاده نشد (جدول ۲). موسوی و همکاران (۲۲) بررسی اجزای گیاه مینای چمنی (*Bellis perennis*) تحت تأثیر تنش یخزدگی نیز نشان دادند که کاهش دما در گستره دمای صفر تا دمای ۱۴- درجه سانتی گراد تأثیر چندانی بر صفات زایشی نداشته است، ولی دمای ۱۶- درجه سانتی‌گراد سبب کاهش به ترتیب ۳۲ و ۱۰۰ درصدی تعداد غنچه و گل در گیاه نسبت به تیمار شاهد شد. نتایج آزمایش حاضر نشان داد که پارامترهای کمی نظیر تعداد گل و غنچه به طور معنی‌داری تحت تأثیر تیمارهای مورد آزمایش قرار گرفتند و بیشینه تعداد گل و غنچه به‌طور متوسط در دماهای صفر تا ۳- درجه سانتی‌گراد مشاهده شد. به طور کلی تحمل به سرما در گیاهان تحت تأثیر مرحله رشدی قرار دارد و پیشرفت رشد گیاه از مرحله رشد رویشی به سمت رشد زایشی سبب کاهش تحمل آن‌ها به درجه حرارت‌های کم می‌شود (۳) که سبب از بین رفتن اندام‌های زایشی می‌گردد. از طرفی بین تعداد اندام‌های زایشی با میزان نشت الکترولیت‌ها همبستگی منفی و معنی‌داری (r =-۰/۷۹**) مشاهده گردید و با افزایش درصد نشت الکترولیت‌ها در گیاهان تحت تیمار آبیاری ۸۰ درصد ظرفیت زراعی۰ بعد اعمال یخزدگی از میزان اندام‌های زایشی در پایان دوره ریکاوری کاسته گردید. همچنین بین درصد بقاء و این شاخص رابطه مثبتی ثبت گردید بنحوی‌که با افزایش درصد بقاء در گیاهان تحت تیمار ۶۰ درصد ظرفیت زراعی بر تعداد اندام‌های زایشی افزوده شد (جدول ۵) که با یافته‌های محققان (۲۶ و ۲۷) که نشان دادند در گل‌های همیشه بهار (*Calendula officinalis*) و بنفشه (*Viola gracilis*) به دلیل افزایش درصد نشت الکترولیت‌ها و کاهش درصد بقاء از تعداد اندام‌های زایشی بعد از دوره رشد مجدد کاسته شد، تطابق دارد.

وزن خشک اجزای مختلف به طور معنی‌داری تحت تأثیر تیمارهای آبیاری و دمایی قرار گرفت (جدول ۱). نتایج نشان داد که در سه تیمار آبیاری وزن خشک گیاه (وزن خشک اجزا رویشی، زایشی، ریشه و کل) تحت تأثیر دماهای یخزدگی کاهش یافت. با کاهش دما به ۱۸- درجه سانتی‌گراد بیشترین درصد کاهش وزن خشک اندام رویشی نسبت به شاهد (به ترتیب ۳۶، ۴۰ درصد) متعلق به تیمارهای ۴۰ و ۸۰درصد ظرفیت زراعی بود. با قرار گرفتن گیاهان در معرض دمای ۲۱- و ۲۴- درجه سانتی‌گراد، گیاهان تحت تیمار ۸۰٪ ظرفیت زراعی از بین رفتند و وزن خشک اندام زایشی گیاهان تحت تیمارهای ۶۰ و ۴۰ درصد ظرفیت زراعی در دمای ۲۱- نسبت به شاهد ۶۲ و ۴۹ درصد کاهش یافت. بیشترین وزن خشک ریشه در تیمارهای ۶۰ و ۴۰ درصد ظرفیت زراعی در دمای صفر درجه سانتی‌گراد مشاهده شد. علیرغم اینکه فقط گیاهان تحت دو تیمار آبیاری قادر به تحمل دمای ۲۱- درجه سانتی‌گراد بودند ولی وزن خشک ریشه آنها شدیداً کاهش یافت و میزان این شاخص در دو تیمار ۶۰ و ۴۰ درصد ظرفیت زراعی در دمای ۲۱- سانتی‌گراد نسبت به شاهد ۶۷ و ۵۵ درصد کاهش یافت. وزن کل گیاه نیز روندی مشابه با صفات دیگر داشت به‌نحوی که از دمای ۲۰ تا صفر درجه سانتی‌گراد در هر سه تیمار روندی صعودی و با کاهش بیشتر دما از ۱۲- درجه سانیت‌گراد روندی نزولی مشاهده گردید. در تیمارهای ۶۰٪ و ۴۰٪ ظرفیت زراعی در دمای ۲۱- که برخی از گیاهان تحت تنش زنده ماندند، به ترتیب ۶۳ و ۵۶ درصد از وزن خشک گیاه نسبت به دمای صفر درجه سانتی‌گراد در همین تیمارها کاسته شد (جدول ۳).

در بررسی تحمل به یخزدگی چندین ژنوتیپ یونجه (*Medicago. truncatula*) توسط هکنبای و همکاران (۱۰) نیز مشاهده شد که با کاهش دما از ۱- تا ۱۳- درجه سانتی‌گراد ماده خشک گیاهان به طور معنی‌داری کاهش داشته است، اما شدت این کاهش در ژنوتیپ *M. truncatula* Gaertn. cv. Paraggio بیشتر از سایرین بود.

جدول ۲- اثرات متقابل تیمارهای آبیاری × دمایی بر سطح برگ، تعداد گل و غنچه گیاهان بنفشه

Table 2- Interaction effects of irrigation ×temperature treatments on leaf area, number of flower and number of bud of viola plants.

آبیاری (ظرفیت زراعی) Iriigation (FC)	دما Temperature (°C)	سطح برگ Leaf area (cm^2)	تعداد گل Number of flower	تعداد غنچه Number of bud
80%	20	56.8 g	5.47 cdefg	3.53 ghi
	0	81.6 c	7.07 ab	5.40 a
	-3	65/5 ef	5.87 bcde	4.07 defg
	-6	64.5 ef	5.80 bcdef	3.93 efgh
	-9	52.6 h	5.67 bcdef	3.93 efgh
	-12	48.9 i	5 defgh	3.47 ghi
	-15	28.9 k	4 gh	3.53 gh
	-18	14.6 l	3.67 h	2.87 j
	-21	0 m	0 i	0 k
	-24	0 m	0 i	0 k
60%	20	66.3 de	4.67 efgh	4 efgh
	0	94.7 a	6 bcde	5.40 a
	-3	86.6 b	7.73 a	5.07 ab
	-6	80.1 c	6.80 abc	4.33 cde
	-9	66.2 e	6 bcde	3.93 efgh
	-12	65.5 ef	6 bcde	4.07 defg
	-15	64.1 i	5.73 bcdef	3.87 efgh
	-18	27.8 k	4.93 defgh	3.53 ghi
	-21	28.8 k	4.33 fgh	3 ij
	-24	0 m	0 i	0 k
40%	20	61.9 f	5.87 bcde	3.80 efgh
	0	90.2 b	7.73 a	5.40 a
	-3	69.9 d	7.07 ab	4.73 bc
	-6	66.7 de	6.67 abc	4.60 bcd
	-9	57.5 g	6.33 abcd	4.20 cdef
	-12	52.7 h	4.87 defgh	3.67 fgh
	-15	35.9 j	4.67 efgh	3.67 fgh
	-18	32.8 j	4.33 fgh	3.67 fgh
	-21	12.7 l	4 gh	3.67 fgh
	-24	0 m	0 i	0 k

میانگین‌های دارای حروف مشابه در هر ستون و برای هر تیمار بر اساس آزمون LSD در سطح احتمال ۵ درصد تفاوت معنی‌داری ندارند.

Means followed by the same letter within each column shows no significant differences among treatments at 0.05 level by LSD test.

ایلس و هوارد آگنو (۱۲) نیز در بررسی تحمل به یخ‌زدگی گیاه زینتی Chatterbox (*Heuchera sanguinea*) بیان کردند که دماهای یخ‌زدگی تأثیر معنی‌داری بر وزن خشک گیاهان در پایان دوره بازیافت داشت و کاهش دما به کم تر از ۸- درجه سانتی‌گراد سبب کاهش شدید در وزن خشک بوته شد، به صورتی که وزن خشک گیاه در دمای ۱۰- درجه سانتی‌گراد ۴۸ درصد کم‌تر از آن نسبت به دمای صفر درجه سانتی‌گراد بود. در آزمایش اخیر، کاهش وزن خشک گیاهان بنفشه تحت تنش در اثر خسارت یخ‌زدگی بر گیاه و کاهش توانایی رشد مجدد آن می‌باشد که با نتایج عزیزی و همکاران (۲) مطابق می‌باشد. گیاهان با تجمع ترکیبات یکسانی نظیر آمینو اسیدها و پروتئین‌ها، ظرفیت خود را در مقابله با تنش خشکی و یخ‌زدگی افزایش می‌دهد که به نظر می‌رسد گیاهان تحت تنش خشکی ۶۰ درصد ظرفیت زراعی با افزایش موادی نظیر کربوهیدارت‌ها و آنزیم‌های آنتی اکسیدانی مقاومت خود را در برابر تنش سرما نسبت به گیاهان شاهد افزایش داده اند. وزن خشک کل در پایان دوره بازیافت همبستگی مثبت و معنی‌داری (r = ۰/۸۲**) با درصد بقاء داشت. به عبارتی با افزایش درصد بقاء وزن خشک گیاهان پس از تنش افزایش یافته است. بین وزن خشک کل گیاه و درصد نشت الکترولیت‌ها همبستگی معنی‌داری (r = -۰/۸۹**) مشاهده شد و لذا با افزایش درصد نشت الکترولیت‌ها در گیاهان تحت تیمار ۸۰ درصد ظرفیت زراعی از وزن خشک کل گیاه در دوره رشد مجدد کاسته شده است. همچنین وزن خشک رویشی با سطح برگ (r = -۰/۹۴**) و وزن خشک زایشی با تعداد گل (r = ۰/۸۳**) همبستگی مثبت و معنی‌داری داشتند (جدول ۵).

جدول ۳- اثرات متقابل تیمارهای آبیاری × دمایی بر وزن خشک قسمت‌های مختلف گیاهان بنفشه

Table 3- Interaction effects of irrigation ×temperature treatments on dry weights of different parts of viola plants

آبیاری (ظرفیت زراعی) Iriigation (FC)	دما Temperature (°C)	وزن خشک Dry weight (mg)			
		رویشی (برگ و ساقه) Vegetative (leaf and stem)	زایشی (گل، غنچه و کپسول) Reproductive (Flower, bud and capsule)	ریشه Root	وزن خشک کل Total dry weights
80%	20	2430 fgh	1970 efg	371 efgh	4771 ij
	0	3330 bcd	2727 bc	569 bcd	6626 cd
	-3	2887 def	2020 efg	469 cde	5376 fgh
	-6	2533 fgh	2000 efg	404 efg	4937 ghij
	-9	2410 gh	1883 ef	362 efghi	4656 jk
	-12	2160 hij	1810 ef	231 ijkl	4201 kl
	-15	1727 jk	1237 h	261 hijk	3225 mn
	-18	1563 k	1217 h	215 jkl	2995 no
	-21	0 m	0 j	0 m	0 q
	-24	0 m	0 j	0 m	0 q
60%	20	3557 abc	2473 cd	448 def	6741 cd
	0	3780 a	3193 a	877 a	7850 a
	-3	3667 abc	2737 bc	619 b	6759 cd
	-6	3600 abc	2877 ab	602 bc	7079 bc
	-9	3253 cd	2677 bc	372 efgh	6302 de
	-12	2523 fgh	2487 cd	296 ghijk	5306 ghi
	-15	2503 fgh	2203 de	290 ghijk	4996 ghij
	-18	2483 fgh	1843 fg	261 hijk	4588 jk
	-21	1643 k	746 i	122 lm	2512 op
	-24	0 m	0 j	0 m	0 q
40%	20	2733 efg	1713 g	463 de	4910 hij
	0	3807 a	2677 bc	841 a	7324 ab
	-3	3240 cd	2097 ef	553 bcd	5889 ef
	-6	3050 de	1883 fg	547 bcd	5480 fg
	-9	2457 fgh	1313 h	401 efg	4171 kl
	-12	2203 fgh	1120 h	383 efgh	3706 lm
	-15	1837 hi	1070 h	325 fghij	3232 mn
	-18	1450 ijk	1023 hi	252 hijkl	2725 no
	-21	980 k	1010 hi	166 kl	2156 p
	-24	0 m	0 j	0 m	0 q

میانگین‌های دارای حروف مشابه در هر ستون و برای هر تیمار بر اساس آزمون LSD در سطح احتمال ۵ درصد تفاوت معنی‌داری ندارند.

Means followed by the same letter within each column shows no significant differences among treatments at 0.05 level by LSD test.

جدول ٤- اثر تیمارهای آبیاری بر LT_{50el}، LT_{50su} و $RDMT_{50}$ گیاهان بنفشه تحت تاثیر تیمارهای دمایی در شرایط کنترل شده

Table 4- Effect of irrigation treatment on LT_{50el} ،LT_{50su} and $RDMT_{50}$ of viola under temperature treatments in controlled conditions

تیمارهای آبیاری (ظرفیت زراعی) Irrigation treatments (FC)	LT_{50el}	LT_{50su}	$RDMT_{50}$
80%	-11.8 c	-19.1b	-19 b
60%	-18.4 a	-22.1a	-20.3a
40%	-15.1b	-22a	-19 b
سطح معنی داری Significance level	**	**	**

میانگین‌های دارای حروف مشابه در هر ستون و برای هر تیمار بر اساس آزمون LSD در سطح احتمال یک درصد تفاوت معنی‌داری ندارند.

Means followed by the same letter within each column shows no significant differences among treatments at 0.01 level by LSD test.

جدول ۵- ضرایب همبستگی بین صفات مختلف گیاه بنفشه تحت تاثیر تنش خشکی و تنش دمایی در شرایط کنترل شده

Table 5- Correlation coefficients between different characteristics in viola affected by drought and temperature stress, under controlled conditions

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
۱-درصد نشت الکترولیت‌ها 1- Electrolyte leakage (%)	1										
۲- دمای ۵۰ درصد کشندگی بر اساس نشت الکترولیت 2- LT_{50el}	0.25^{*}	1									
۳- درصد بقاء 3- Survival (%)	-0.77^{**}	-0.13^{ns}	1								
۴- دمای ۵۰ درصد کشندگی بر اساس بقاء 4- LT_{50su}	0.71^{**}	0.25^{*}	-0.95^{**}	1							
۵- سطح برگ 5- Leaf area	**-0.88	-0.21^{*}	0.77^{**}	-0.69^{**}	1						
۶- تعداد گل 6- Number of flower	-0.79^{**}	-0.16^{ns}	0.86^{**}	-0.83^{**}	0.84^{**}	1					
۷- تعداد غنچه 7- Number of bud	-0.79^{**}	-0.16^{ns}	0.91^{**}	-0.89^{**}	0.86^{**}	0.90^{**}	1				
۸- وزن خشک رویشی 8- Dry weight of vegetative	-0.89^{**}	0.28^{**}	0.83^{**}	-0.77^{**}	0.94^{**}	0.87^{**}	0.88^{**}	1			
۹- وزن خشک زایشی 9- Dry weight of reproductive	-0.85^{**}	-0.28^{**}	0.78^{**}	-0.71^{**}	0.90^{**}	0.83^{**}	0.84^{**}	0.92^{**}	1		
۱۰- وزن خشک ریشه 10- Dry weight of root	-0.79^{**}	-0.17^{ns}	0.68^{**}	-0.62^{**}	0.90^{**}	0.74^{**}	0.81^{**}	0.87^{**}	0.80^{**}	1	
۱۱- وزن خشک کل 11- Total dry weight	-0.89^{**}	-0.28^{**}	0.82^{**}	-0.76^{**}	0.95^{**}	0.87^{**}	0.89^{**}	0.98^{**}	0.97^{**}	0.87^{**}	1
۱۲- دمای کاهنده ۵۰درصد وزن خشک 12- $RDMT_{50}$	0.72^{**}	0.19^{ns}	-0.96^{**}	0.99^{**}	-0.69^{**}	-0.83^{**}	-0.89^{**}	-0.78^{**}	-0.74^{**}	-0.61^{**}	-0.74^{**}

**: نشان دهنده معنی‌داری در سطح احتمال ۱ درصد می‌باشد.

** ،* و ns: به‌ترتیب نشان دهنده معنی‌داری در سطح احتمال ۱ و ۵ درصد و عدم وجود اختلاف معنی‌دار می‌باشد.

**, * and ns: Significant at 1% and 5% probability levels and no significant, respectively

اثرات متقابل تیمارهای آبیاری و دما نیز بر دمای کاهنده ۵۰ درصد وزن خشک ($RDMT_{50}$) معنی‌دار بود. کمترین میزان $RDMT_{50}$ متعلق به تیمار ۶۰ درصد ظرفیت زراعی که با دو تیمار دیگر ۱/۵ درجه سانتی‌گراد تفاوت داشت (جدول ۴). نتایج نشان داد که در گیاهان متحمل به تنش یخ‌زدگی با کاهش درصد نشت الکترولیت‌ها، شاخص هایی $RDMT_{50}$ و LT_{50su} به‌طور معنی‌داری کاهش یافته و رابطه مثبت و معنی‌داری داری بین LT_{50su} و $RDMT_{50}$ ($r = ۰/۹۹^{**}$) مشاهده شد (جدول ۵)، به نحوی‌که در گیاهان تحت تیمار ۸۰ درصد ظرفیت زراعی با افزایش درصد نشت الکترولیت در اندام‌های مورد آزمایش بر شاخص $RDMT_{50}$ افزوده و از وزن خشک در پایان دوره رشد مجدد کاسته گردید. همبستگی های بین شاخص‌های فوق در چغندر (۲۵) و گلرنگ (۲۳) به دست آمده است.

نتیجه‌گیری

نتایج نشان داد که با افزایش تنش یخ‌زدگی مقاومت گیاهان بنفشه کاهش یافت. همچنین صفات مربوط به رشد مجدد، گیاهانی که دمای صفر درجه سانتی‌گراد را دریافت نمودند نسبت به گیاهانی که در طول آزمایش هیچگونه دمای یخ‌زدگی را دریافت نکردند (شاهد)، بهتر بود. در آزمایش حاضر استفاده از تیمار آبیاری ۶۰٪ ظرفیت زراعی سبب بهبود رشد مجدد گیاهان با افزایش سطح برگ، تعداد اندام‌های زایشی و وزن خشک قسمت‌های مختلف گیاه بنفشه و افزایش مقاومت به تنش یخ‌زدگی گردید. از طرف دیگر همبستگی معنی‌داری بین صفات مشاهده شد به‌طوری که با افزایش میزان نشت الکترولیت‌ها صفاتی نظیر سطح برگ، بقاء و وزن خشک اندام‌های مختلف کاهش یافت. در زمستان به دلیل تغییرات اقلیمی و بالا رفتن دما و به دنبال آن ایجاد تنش خشکی با توجه به نتایج حاضر می‌توان به مجریان فضای سبز پیشنهاد نمود که نیازی به آبیاری نمی‌باشد هرچند که کاهش بیش از اندازه رطوبت خاک (۴۰٪ ظرفیت زراعی) نیز سبب کاهش برخی صفات رویشی بنفشه گردید اما درصد بقاء گیاهان نسبت به آبیاری ۸۰٪ ظرفیت زراعی افزایش یافت.

منابع

1- Anderson J.A., Michael P., and Taliaferro C.M. 1988. Cold hardiness of midiron and Tifgreen. Horticultural Science 23: 748-750.

2- Azizi H., Nezami A., Nassiri M., and Khazaie H.R. 2007. Evaluation of cold tolerance in wheat (*Triticum aestivum* L.) cultivars under controlled conditions. Iranian Journal of Field Crops Research 5: 109-121. (In Persian with English abstract)

3- Bagheri a., Nezami A., and Soltani M. 2000. Cool season crops modified for tolerance to stress. Publication of Research, Education and Extension. Mashhad.(In Persian)

4- Campbell G.S., and Mulla D.J. 1990. Measurement of soil water content and potential. Chapter 6 In Stewart B.A. and Nielsen D.R. (co-editors). Irrigation of Agricultural Crops. American Society of Agronomy. Madison, USA pp 127-142.

5- Chinnusamy V., Schumaker K., and Zhu J.K. 2004. Molecular genetic perspectives on cross-talk and specificity in abiotic stress signaling in plants. Journal Experimental Botany 55: 225-236.

6- Dole J.M., and Wilkins H.F. 2004. Floriculture (Principles and Species). Second edition. Pearson Prentice Hall. New Jersey.P.995.

7- Ercoli L., Mariotti M., Masoni A., and Arduini I. 2004. Growth responses of sorghum plants to chilling temperature and duration of exposure. European Journal of Agronomy 21: 93-103.

8- Gusta L.V., Fowler D.B., and Tyler N.J. 1982. Factors influencing hardening and survival in winter wheat. In: Li P.H., and Sakai A. (eds.). Plant Cold Hardiness and Freezing Stress.Academic press. New York.

9- Gusta L.V., Wisniewski M., Nesbitt N., and Tanino K. 2003. Factors to consider in artificial freeze tests. Intl. Congress. Acta Hortic. 618:493-507.

10- Hekneby M., Antolin M.C., and Sanchez-Diaz M. 2006. Frost resistance and biochemical changes during cold acclimation in different annual legumes. Environmental Experimental Botany 55: 305-314.

11- Hoffman L., DaCosta M., Ebdon J.S., and Zhao J. 2012. Effects of drought preconditioning on freezing tolerance of perennial ryegrass. Environmental and Experimental Botany 79: 11-20.

12- Iles J.K., and Howard Agnew N. 1993. Determining cold hardiness of *Heuchera sanguine* Engelm‘Chatterbox’ using dormant crowns. Horticultural Science 28: 1087-1088.

13- Jiang Y., and Huang B. 2001. Osmotic adjustment and root growth associated with drought preconditioning enhanced heat tolerance in Kentucky bluegrass. Crop Science 41: 1168-1173.

14- Khalighi A. 2000. Floriculture: Breeding of Ornamental Plants. Golshan Publications. Tehran, Iran. 392 pp. (In Persian)

15- Khorsandi T. 2013. Evaluation of late spring cold tolerance in black cumin (*Nigella sativa* L.) ecotypes under controlled conditions. MSc Thesis. Faculty of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad. (In Persain with English abstract)
16- Kim D.C., and Anderson N.O. 2006.Comparative analysis of laboratory freezing methods to establish cold tolerance of detached rhizomes and intact crowns in garden chrysanthemums (*Dendranthema- grandiflora* Tzvelv.). Scientia Horticulturae 109: 345-352.
17- López R., Rodríguez-Calcerrada J., and Gil L. 2009. Physiological and morphological responses to water deficit in seedlings of five provenances of *Pinus canariensis*: potential to detect variation indrought tolerance. Trees-Structure and Function 23: 509-519.
18- Mahfoozi S., Limin A.E., and Fowler D.B. 2001. Influence of vernalization and photoperiod responses and cold hardiness in winter cereals. Crop Science 41: 1006-1011.
19- Medeiros J.S., and Pockman W.T. 2011. Drought increases freezing tolerance of both leaves and xylem of *Larrea tridentate.* Plant, Cell and Environment 34: 43-51.
20- Metwally A.S., Khalid A.K., and Abou-Leila B.H. 2013. Effect of water regime on the growth, flower yield, essential oil and proline contents of *Calendula officinalis* .Bioscience 5: 65-69.
21- Mirmohamadi Meibodi A., and Tarkeshe Esfahani C. 2004. Aspects of Physiology and breeding for cold and freezing in crops. Golbon Publication, Isfahan, Iran 223 pp. (In Persian)
22- Mousavi J.M., Nezami S., Izadi E., Nezami A., Yousef Sani M., Keykha Akhar F. 2011. Evaluation of freezing tolerance of English daisy (*Bellis perennis)* under controlled conditions. J. Water and Soil 25: 380-388. (In Persian with English abstract)
23- Nezami A., and Naghedinia N. 2010. Effects of freezing stress on electrolyte leakage of sufflower genotypes. Journal of Iranian Field Crop Research 7: 891-896.
24- Nezami A., Bagheri A., Rahimian H., Kafi M., and Nasiri Mahallati M. 2006. Evaluation of freezing tolerance in chickpea (*Cicer aritinum*) genotypes in controlled condition. Journal of Sciences and Technology of Agriculture and Natural Resources 4: 257-268.
25- Nezami A., Hajmohammadnia- Ghalibaf K., and Kamandi A. 2010. Evaluation of freeze tolerance of sugarbeet cultivars (*Beta vulgaris* L.) in controlled conditions. Environmental Stress in Crop Sciences 3: 177-187. (In Persian with English abstract)
26- Nezami A., Javad Mousavi M., Nezami S., Izadi Darbandi E., Yousef Sani M., and Keykha Akhar F. 2014. Study on freezing tolerance of calendula (*Calendula officinalis* L.) in vegetative and reproductive stages. Journal of Horticultural Science 28: 378-369. (In Persian with English abstract)
27- Nezami A., Keykhah F., Javad Mousavi M., Izadi Darbandi A., Nezami S., and Yousef Sani M. 2012. Effect of freezing stress on viola (*Viola gracilis* L.) in controlled condition. Journal of Agroecology 3: 430-438. (In Persian with English abstract)
28- Nezami A., Manjula S.B., and Gusta L.V. 2012. An evaluation of freezing tolerance of winter chickpea (*Cicer arientinum* L.) using controlled freeze tests. Canadian Journal of Plant Science 92: 155-161.
29- Nezami, A., 2002**.** Evaluation of cold tolerance of chickpea (*Cicer arietinum* L.) for fall planting in the highlands. Ph.D. Thesis. Faculty of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad, Iran. (In Persian with English abstract)
30- Pearce R.S. 2001. Plant freezing and damage. Annals of Botany 87: 417-424.
31- Pietsch G.M., Anderson N.O., and Li P.H. 2009.Cold tolerance and short day acclimation in perennial *Gaura coccinea* and *G. drummondii*. Scientia Horticulturae 120: 418–425.
32- Rajashekar C.B., and Panda M. 2014. Water stress is a component of cold acclimation process essential for inducing full freezing tolerance in strawberry. Scientia Horticulturae 174: 54-59.
33- Rashed Mohassel M.H., Nezami A., Bagheri A.R., Hajmohammadnia K., and Bannayan M. 2009. Evaluation of freezing tolerance of two fennel *(Foeniculum vulgar* L.) ecotypes under controlled conditions. Journal of Herbs Species and Medicinal Plants 15: 131–140.
34- Serrano L., Peñuelas J., Ogaya R., and Savé R. 2005. Tissue–water relations of two co-occurring evergreen Mediterranean species in response to seasonal and experimental drought conditions. Journal of Plant Research 118: 263-269.
35- Singh K.B., Malhotra R.S., Saxena M.C., and Bejia G.1997. Superiority of winter sowing over traditional spring sowing of chickpea in the Mediterranean region. Agronomy Journal 89: 112-118.
36- Thapa B., Arora R., Knapp A., and Brummer E.C. 2008. Applying Freezing Test to Quantify Cold Acclimation in *Medicago truncatula*. Journal of American. Society. Horticultural Science 133:684–686.
37- Xuan J., Liu J., Gao H., Huaguabghu H., and Cheng X. 2009. Evaluation of low-temperature tolerance of Zoysia grass. Tropical Grasslands 43: 118-124.
38- Zhang Q., Fry J., Rajashekar C., Bremer D., and Engelke M. 2009. Membrane polar lipid changes in Zoysiagrass rhizomes and their potential role in freezing tolerance. Journal of American Society in Horticultural Science 134:322-328.

Journal of Horticultural Science
Vol. 34, No.1, Spring 2020, P. 1-14
ISSN: 2008 - 4730

نشریه علوم باغبانی (علوم و صنایع کشاورزی)
جلد ۳۴، شماره ۱، بهار ۱۳۹۹، ص. ۱۴-۱
شاپا: ۴۷۳۰ - ۲۰۰۸

The Effect of Irrigation Levels on Improvement of Cold Tolerance in Viola Plants under Controlled Conditions

A. Oraee[1]- A. Tehranifar[2*]- A. Nezami[3]- M. Shoor[4]
Received: 03-10-2017
Accepted: 13-03-2018

Introduction: Climate change is expected to have impacts on ecosystems worldwide. During the last 50 years, the greatest warming trends have been observed in winter months and significant increases in both the occurrence and duration of winter warming have already been reported. In general, predicted future climate change scenarios will result in less than optimal cold acclimation conditions, leading to decreases in freezing tolerance and predisposition of plants to winter injury. Nonetheless, it is not clear whether water stress induced during cold hardening is of high importance in inducing freezing tolerance in plants or it is an integral part of typical cold hardening process. Since rapid and effective assessment of plant cold tolerance is important for researchers and also field trials have no regular process and have high error, different kinds of artificial freeze tests such as survival percentage test and regrowth after imposing stress have been developed.

Materials and Methods: In order to evaluate the effect of drought stress on plant freezing tolerance of viola, a factorial experiment was conducted based on completely randomized design with three replications in faculty of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad. Experimental factors include three water treatments (80% FC, 60 % FC and 40% FC) and 10 temperature levels (Control, from zero to -24 with 3 °C intervals). Pansy seeds sown in a nursery in the summer of 2015 and after reaching the five-leaf stage in the fall plants were transferred to the pots. After the potted plants spend cold acclimation in nature conditions, plants were subjected to water stress including control (80% FC), 60% and 40% FC for two weeks. After drought stress, whole plants were sampled for freezing tolerance assessment and they were transferred to the freezer thermos-gradient. After applying the stress, electrolyte leakage, lethal temperature 50 according to the electrolyte leakage percentage (LT_{50el}) were measured. One months later, survival percentage, lethal temperature 50% of plant according to the survival percentage (LT_{50su}), leaf area, number of flower and bud, dry weight (dry weight of vegetative, reproductive, root and total) and reduced dry matter temperature 50 ($RDMT_{50}$) were evaluated.

Results and Discussion: Electrolyte leakage percentage (EL %) and survival (%) were significantly ($p \leq 0.01$) affected by irrigation treatments in the freezing conditions. By lowering the temperature from 20 to -24 °C, the EL% significantly increased in three irrigation treatments and it increased in 80% FC compared to 60% (by 16%) at -24°C. plants under 60% FC treatment exhibited higher baseline freezing tolerance (LT_{50} of −18.4 °C) compared to 80% FC (LT_{50} of −11.8 °C).Treated plants (except 80% FC) were able to tolerate lowering the temperature to -21°C. Lowering the temperature to -24°C caused the total mortality. According to the LT_{50su} index, 60% FC treatment was less than compared to other treatments. Leaf area significantly increased by 16%, respectively, when plants were under water deficit (60% FC) compared to 80% FC at 0 °C. The maximum number of flower were seen in 60% FC at – 3 °C and the maximum number of bud were observed at 0 °C. The results showed that dry weight was significantly ($p \leq 0.01$) increased by drought stress in the freezing conditions. Plants under 60% FC at 0 °C had the highest increase (55, 62 and 64%, respectively) dry weight of vegetative, reproductive and total growth, respectively compared to control. By lowering the temperature to -18 °C in 80% FC vegetative, reproductive and root growth decreased (36, 38 and 42%, respectively) compared to control plants. $RDMT_{50}$ significantly affected by drought stress. There were significantly correlation between EL with LT_{50el} and $RDMT_{50}$ (r =0.25* and r = 0.72**, respectively). In total, plants under 60% FC showed highest freezing tolerance compared to the other treatments.

Conclusions: In the current study, we found that the greatest gain in freezing tolerance was associated with cold and that the effect of drought stress on freezing tolerance varied with temperature. Drought stress resulted in an improvement in freezing tolerance of viola (lower LT_{50}). Among the different parameters evaluated, 60% FC

1, 2 and 4- Ph.D. Graduated, Professor and Associate Professor, Department of Horticulture Science and Landscape, Faculty of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran, respectively.
(*- Corresponding Author Email: tehranifar@um.ac.ir)
3- Professor Department of Agronomy Faculty of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Mashhad, Iran

treatment at 0 °C most consistently induced increases in survival percentage, reproductive and vegetative growth which suggested a synergistic effect between drought exposure and low temperature. Higher dry weight of viola plants may contribute to better plant overwintering capacity. In addition, future research should explore the effect of repeated mild drought events on freezing tolerance of acclimated plants, by using strategies such as wilt-based irrigation scheduling, partial root zone drying, and deficit irrigation.

Keywords: Climate changing, Freezing, Hardening lethal temperature, Winter survival